【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】令和4年3月30日(2022.3.30)

【国際公開番号】WO2019/183605
【公表番号】特表2021-519065(P2021-519065A)
【公表日】令和3年8月10日(2021.8.10)
【出願番号】特願2020-551357(P2020-551357)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ 15/113(2010.01)
Ｃ１２Ｎ 15/35(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/63(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 1/15(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 1/19(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 1/21(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 5/10(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 7/01(2006.01)
Ａ６１Ｋ 31/7105(2006.01)
Ａ６１Ｋ 31/713(2006.01)
Ａ６１Ｋ 35/76(2015.01)
Ａ６１Ｋ 35/32(2015.01)
Ａ６１Ｐ 19/10(2006.01)
Ａ６１Ｐ 19/08(2006.01)
Ａ６１Ｐ 15/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ 13/08(2006.01)
Ａ６１Ｐ 35/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ 35/04(2006.01)
Ａ６１Ｐ 3/10(2006.01)
Ａ６１Ｐ 37/06(2006.01)
Ａ６１Ｐ 17/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ 29/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ 19/02(2006.01)
Ａ６１Ｐ 1/04(2006.01)
Ａ６１Ｐ 11/06(2006.01)
Ａ６１Ｐ 25/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ 1/02(2006.01)
Ａ６１Ｌ 27/36(2006.01)
Ａ６１Ｌ 27/38(2006.01)
Ａ６１Ｌ 27/40(2006.01)
Ｃ０７Ｋ 14/015(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 5/077(2010.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ 15/113130Ｚ
Ｃ１２Ｎ 15/35　　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ 15/113120Ｚ
Ｃ１２Ｎ 15/63　　Ｚ
Ｃ１２Ｎ 1/15
Ｃ１２Ｎ 1/19
Ｃ１２Ｎ 1/21
Ｃ１２Ｎ 5/10

Ｃ１２Ｎ　7/01
Ａ６１Ｋ 31/7105
Ａ６１Ｋ 31/713
Ａ６１Ｋ 35/76
Ａ６１Ｋ 35/32
Ａ６１Ｐ 19/10
Ａ６１Ｐ 19/08
Ａ６１Ｐ 15/00
Ａ６１Ｐ 13/08
Ａ６１Ｐ 35/00
Ａ６１Ｐ 35/04
Ａ６１Ｐ　3/10
Ａ６１Ｐ 37/06
Ａ６１Ｐ 17/00
Ａ６１Ｐ 29/00　１０１
Ａ６１Ｐ 19/02
Ａ６１Ｐ　1/04
Ａ６１Ｐ 29/00
Ａ６１Ｐ 11/06
Ａ６１Ｐ 25/00
Ａ６１Ｐ　1/02
Ａ６１Ｌ 27/36　１００
Ａ６１Ｌ 27/36　１１０
Ａ６１Ｌ 27/36　３１１
Ａ６１Ｌ 27/38　１１１
Ａ６１Ｌ 27/38　２００
Ａ６１Ｌ 27/38　３００
Ａ６１Ｌ 27/40
Ｃ０７Ｋ 14/015
Ｃ１２Ｎ　5/077

【手続補正書】
【提出日】令和4年3月22日(2022.3.22)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
（i）第1のアデノ随伴ウイルス(AAV)逆方向末端反復(ITR)またはそのバリアントを含む第1の領域；および
（ii）少なくとも1つの骨代謝調整剤をコードする導入遺伝子を含む第2の領域をコードする、単離された核酸。
【請求項２】
骨代謝調整剤が、骨形成促進剤であり、
任意に、骨形成促進剤が、骨芽細胞および/または骨細胞の機能あるいは活性を促進するタンパク質、破骨細胞の機能を阻害するタンパク質、ならびに破骨細胞の発現または活性を阻害する阻害性核酸からなる群から選択され、
ここで、導入遺伝子が、副甲状腺ホルモン(PTH)、PTH関連タンパク質(PTHrP)、デグ

リカーゼDJ1、スクレロスチン(SOST)を標的にする阻害性核酸、schnurri-3(SHN3)を標的にする阻害性核酸、カテプシンK(CTSK)を標的にする阻害性核酸、およびNF-κβ活性化受容体(RANK)を標的にする阻害性核酸からなる群から選択される骨形成促進剤をコードする、
請求項1に記載の単離された核酸。
【請求項３】
骨代謝調整剤が、骨形成阻害剤であり、
任意に骨形成阻害剤が、骨芽細胞および/または骨細胞の機能あるいは活性を阻害するタンパク質、破骨細胞の機能または活性を促進するタンパク質、ならびに骨芽細胞の発現または活性を阻害する阻害性核酸からなる群から選択され、
ここで、導入遺伝子が、スクレロスチン(SOST)、schnurri-3(SHN3)、カテプシンK(CTSK)、副甲状腺ホルモン(PTH)を標的にする阻害性核酸、PTH関連タンパク質(PTHrP)を標的にする阻害性核酸、およびデグリカーゼDJ1を標的にする阻害性核酸からなる群から選択される骨形成阻害剤をコードする、
請求項1に記載の単離された核酸。
【請求項４】
導入遺伝子が、dsRNA、siRNA、shRNA、miRNA、および人工miRNA(amiRNA)からなる群から選択される少なくとも1つの阻害性核酸をコードし、
ここで、阻害性核酸が、突然変異末端反復(mTR)として機能する、
請求項1～3のいずれか一項に記載の単離された核酸。
【請求項５】
導入遺伝子が、配列番号1～15または55～56のいずれか1つで表される配列を含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の単離された核酸。
【請求項６】
導入遺伝子へ作動可能に連結された少なくとも1つのプロモーターをさらに含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の単離された核酸。
【請求項７】
第2のAAV ITRまたはそのバリアントを含む第3の領域をさらに含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の単離された核酸。
【請求項８】
請求項1～7のいずれか一項に記載の単離された核酸を含むベクターであって、任意にここでベクターが、プラスミドである、前記ベクター。
【請求項９】
請求項1～7のいずれか一項に記載の単離された核酸、または請求項8に記載のベクターを含む宿主細胞。
【請求項１０】
（i）カプシドタンパク質；および
（ii）請求項1～7のいずれか一項に記載の単離された核酸
を含み、
ここでカプシドタンパク質が、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV6.2、AAV7、AAV8、AAV9、AAV.rh8、AAV.rh10、AAV.rh39、AAV.43、AAV2/2-66、AAV2/2-84、およびAAV2/2-125から選択される血清型、または上記いずれかのバリアントに属し、任意にここでカプシドタンパク質が、配列番号18～34のいずれか1つで表される配列を含む、
組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)。
【請求項１１】
カプシドタンパク質が、骨芽細胞(OBs)を形質導入し、任意にここでカプシドタンパク質が、AAV4、AAV1、AAV6、AAV6.2、およびAAV9から選択される血清型、または上記いずれかのバリアントに属する、請求項10に記載のrAAV。
【請求項１２】

カプシドタンパク質が、破骨細胞(OCs)を形質導入し、任意にここでカプシドタンパク質が、AAV1、AAV5、AAV6、AAV6.2、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV.rh39、およびAAV.rh43から選択される血清型、または上記いずれかのバリアントに属する、請求項10に記載のrAAV。

【請求項１３】

カプシドタンパク質が、異種の骨標的化ペプチドを含み、

ここで異種の骨標的化ペプチドが、配列番号16、17、57、58、59、60、61、62、または63で表されるアミノ酸配列を含み、および

異種の骨標的化ペプチドをコードする核酸配列が、カプシドタンパク質のVP2オープンリーディングフレーム中へ挿入されており、任意にここで核酸配列が、AAV9カプシドタンパク質をコードする核酸配列のN587とR588とに対応するコドン間に挿入されている、

請求項10～12のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項１４】

カプシドタンパク質が、1以上のアジド担持非天然アミノ酸を有するアミノ酸配列によってコードされており、

ここでカプシドタンパク質が、1以上のアジド担持非天然アミノ酸を介して1以上のアレンドロナート(Ale)部分へ抱合されている、

請求項10～12のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項１５】

rAAVが、自己相補的AAV(scAAV)である、請求項10～14のいずれか一項に記載のrAAV。

【請求項１６】

異種の骨標的化ペプチドを含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)カプシドタンパク質をコードする単離された核酸であって、任意に異種の骨標的化ペプチドが、配列番号16、17、57、58、59、60、61、62、または63で表されるアミノ酸配列を含む、前記単離された核酸。

【請求項１７】

1以上のアジド担持非天然アミノ酸を含む組換えAAVカプシドタンパク質であって、任意にカプシドタンパク質が、1以上のアジド担持非天然アミノ酸を介して1以上のアレンドロナート(Ale)部分へ抱合されている、前記組換えAAVカプシドタンパク質。

【請求項１８】

導入遺伝子を骨組織へ送達するための方法であって、方法が、請求項1～7のいずれか一項に記載の単離された核酸または請求項10～15のいずれか一項に記載のrAAVを対象へ投与することを含む、前記方法。

【請求項１９】

低下した骨密度に関連する疾患または障害を処置するための方法であって、方法が、請求項10～15のいずれか一項に記載のrAAVを、低下した骨密度に関連する疾患もしくは障害を有するかまたはこれを有すると疑われる対象へ投与することを含み、

ここで導入遺伝子が、骨形成促進剤をコードし、

任意に、ここで骨形成促進剤が、骨芽細胞および/または破骨細胞の機能あるいは活性を促進するタンパク質、破骨細胞の機能または活性を阻害するタンパク質、ならびに破骨細胞の発現または活性を阻害する阻害性核酸からなる群から選択され、

ここで骨形成促進剤が、副甲状腺ホルモン(PTH)、PTH関連タンパク質(PTHrP)、デグリカーゼDJ1、スクレロスチン(SOST)を標的にする阻害性核酸、Schnurri-3(SHN3)を標的にする阻害性核酸、カテプシンK(CTSK)を標的にする阻害性核酸、およびNF-κβ活性化受容体(RANK)を標的にする阻害性核酸からなる群から選択され、

ここで低下した骨密度に関連する疾患または障害が、骨粗鬆症、危機的サイズの骨欠損、廃用または傷害の結果生じる機械的障害、および乳がんまたは前立腺がんの転移などの続発性障害、1型糖尿病、ループス、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、甲状腺機能亢進症

、セリアック病、喘息、多発性硬化症、および歯周炎である、前記方法。
【請求項２０】
変形して肥大した(例として、上昇した)骨の密度に関連する疾患または障害を処置するための方法であって、方法が、請求項１０~１５のいずれか一項に記載のｒＡＡＶを、上昇した骨密度に関連する疾患または障害を有するかまたはこれを有すると疑われる対象へ投与することを含み、
ここで導入遺伝子が、骨形成阻害剤をコードしており、
任意に、ここで骨形成阻害剤が、骨芽細胞および/または骨細胞の機能あるいは活性を阻害するタンパク質、破骨細胞の機能または活性を促進するタンパク質、および骨芽細胞の発現または活性を阻害する阻害性核酸からなる群から選択され、
ここで骨形成阻害剤が、スクレロスチン(ＳＯＳＴ)、ｓｃｈｎｕｒｒｉ-３(ＳＨＮ３)、カテプシンＫ(ＣＴＳＫ)、副甲状腺ホルモン(ＰＴＨ)を標的にする阻害性核酸、ＰＴＨ関連タンパク質(ＰＴＨｒＰ)を標的にする阻害性核酸、デグリカーゼＤＪ１を標的にする阻害性核酸、およびＮＦ-κβ活性化受容体(ＲＡＮＫ)を標的にする阻害性核酸からなる群から選択され、
ここで変形して肥大した(例として、上昇した)骨密度に関連する疾患または障害が、大理石骨病、濃化異骨症、硬結性骨化症、先端巨大症、フッ素症、骨髄線維症、Ｃ型肝炎関連骨硬化症、異所性骨化、ならびに骨肉腫および骨の転移性がんなどの骨のがんである、
前記方法。
【請求項２１】
投与が、注射によって行われ、
任意に、注射が、全身注射(例として、静脈内注射)および局所注射(例として、筋肉内(ＩＭ)注射、膝注射、および大腿骨髄内注射)である、請求項１８～２０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２２】
投与が、請求項１０~１５のいずれか一項に記載のｒＡＡＶを含む組織または移植片の対象中への移植によって行われる、請求項１９～２０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３】
投与が、骨芽細胞、骨細胞、破骨細胞、および軟骨細胞からなる群から選択される細胞型の形質導入をもたらす、請求項１８～２２のいずれか一項に記載の方法。